

ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ ПРООКСИДАНТНОЇ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У ТИМУСІ ТВАРИН ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ

Резюме. У даній роботі показано, що за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту на 34 добу зростає концентрація малонового альдегіду за рахунок посилення процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Дані зміни вказують, що в патогенезі розвитку експериментального алергічного альвеоліту морських свинок важливу роль відіграють процеси пероксидного окиснення ліпідів та ферментативної і неферментативної ланки антиоксидантної системи (АОС), а також значне виснаження ферментативної ланки антиоксидантної глутатионової системи на 34 добу.

Мета дослідження – вивчити стан про- та антиоксидантної систем у тимусі тварин в різні періоди розвитку експериментального алергічного альвеоліту (ЕАА).

Матеріали і методи. Досліди були проведені на 36 морських свинках масою тіла 0,18–0,20 кг, яких поділили на чотири групи (дев'ять тварин у кожній). Інтактні морські свинки склали першу групу (контроль). Тварини з експериментальним алергічним альвеолітом – друга, третя, четверта групи, відповідно на 1; 2 і 34 доби експерименту. Визначення тестів, що відображають процеси прооксидантної (ДК, МДА) та антиоксидантної систем (СОД, каталаза) у тимусі, здійснювали в інтактних морських свинок та у тварин з експериментальним алергічним альвеолітом. ЕАА – методом О. О. Орехова, Ю. А. Кирилова (1985). Тварин декапітували під ефірним наркозом на 1; 2, 34 доби проведення експерименту. Проводили забір тимуса, з якого готували гомогенат. У гомогенаті досліджували активність каталази (КТ) – R. Holmes, С. Masters; супероксиддисмутази (СОД) – R. Fried, а також вміст дієнових кон'югатів (ДК) – методом В. Б. Гаврилова, М. І. Мішкорудної та визначали рівень малонового діальдегіду (МДА) за методом Е. Н. Коробейникової. Статистичне опрацювання цифрових даних проводили з використанням методу Стюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати досліджень показали, що активність ферментів АОС змінювалась однонаправлено залежно від періодів формування експериментального АА. Тому в морських свинок з експериментальним АА було підвищення продуктів ПОЛ як при початковому, так і на завершальному етапах.

Висновки. Отримані результати свідчать про значні зміни у стані про- та антиоксидантної систем у тимусі тварин із екзогенним алергічним альвеолітом та є важливими для кращого розуміння патогенезу ЕАА. Дані дослідження дають можливість для пошуку більш ефективних і результативних способів корекції виявлених змін при ЕАА.

Ключові слова: експериментальний алергічний альвеоліт; тимус; дієнові кон'югати; малоновий діальдегід; супероксиддисмутаза; каталаза.

ВСТУП Експериментальний алергічний альвеоліт (ЕАА) – це легеневе захворювання, у патогенезі якого головну роль відіграють імунотоксичні алергічні реакції. В якості алергену виступають переважно інгаляційні екзогенні антигени, що утворюють із відповідними антитілами циркулюючі імунні комплекси (ЦІК). Циркулюючі імунні комплекси, а також специфічні антитіла, активізують систему комплементу та альвеолярні макрофаги. Які, у свою чергу, виділяють біологічно активні речовини, що сприяють проліферації фібробластів та продукції колагену. В результаті цього розвивається альвеолобронхіоліт та відбувається фіброзування інтерстицію. При тривалому потрапленні антигену в легені виникають алергічні реакції гіперчутливості сповільненого типу, що спричиняють формування гранульом. Трансформація останніх у сполучнотканинні формування ускладнює розпізнавання ЕАА [1, 2].

Враховуючи те, що не існує специфічних клінічних і лабораторних тестів для виявлення ЕАА, діагноз здебільшого становлять лише на основі клінічних даних, а подібність клінічної картини до інших захворювань легень ускладнює цей процес. Крім цього, на цих стадіях розвитку ЕАА виникають незворотні зміни, які призводять до інвалідазації хворих. Усе це дозволяє вважати дане захворювання тяжкою патологією, а вивчення патогенезу ЕАА актуальним.

Оскільки, для ЕАА характерний імунотоксичний генез захворювання, цікавим є дослідження змін стану прооксидантної та антиоксидантної систем в окремих імунних органах. На сьогодні вже досліджуються такі зміни на ранніх етапах розвитку ЕАА, проте залишається не вивченими подальший стан антиоксидантної та прооксидантної систем імунних органів у патогенезі ЕАА.

Метою дослідження було вивчення стану про- та антиоксидантної систем у тимусі тварин в різні періоди розвитку ЕАА.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди на тваринах виконували з дотриманням ухвали Першого національного конгресу з біоетики про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей [3, 4].

Комісія з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявила.

Експериментальні дослідження проводили на кафедрі патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Досліди були виконані на 36 морських свинках масою тіла 0,18–0,20 кг. Особин поділили на чотири групи (дев'ять тварин у кожній). Інтактні морські свинки склали першу групу (контроль). Тварини з експериментальним алергічним альвеолітом (ЕАА) – друга, третя, четверта групи, відповідно на 1; 2 і 34 доби експерименту. Визначали тести, що відображають процеси прооксидантної (ДК, МДА) та антиоксидантної систем (СОД, каталаза) в тимусі, в інтактних морських свинок та у тварин з експериментальним алергічним альвеолітом.

Ранній період – 1 і 2 доби ЕАА від початку введення антигену. Пізній період – 34 доба ЕАА від початку введення антигену. ЕАА відтворювали за методом О. О. Орехова, Ю. А. Кирилова, 1985 [5].

Тварин декапітували під ефірним наркозом на 1, 2, 34 доби проведення експерименту. Проводили забір тимуса, з якого готували гомогенат.

У гомогенаті досліджували активність каталази (КТ) за методом R. Holmes, C. Masters [6] та супероксиддисмутази (СОД) визначали методом R. Fried [7], а також вміст дієнових кон'югатів (ДК) – методом В. Б. Гаврилова, М. І. Мішкорудної [8] та визначали рівень малонового діальдегіду (МДА) за за методом Е. Н. Коробейникової [9].

Статистичне опрацювання цифрових даних проводили з використанням загальноприйнятого методу Стюдента. Статистично достовірними вважалися результати, для яких $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для оцінки стану прооксидантної та антиоксидантної систем у тварин в процесі розвитку ЕАА було досліджено активність КТ і СОД, а також рівень МДА і ДК у тимусі тварин на 1; 2; 34 доби з початку експерименту.

У результаті проведених досліджень виявлено, що на 1; 2 і 34 доби розвитку ЕАА у тимусі морських свинок поступово зростала інтенсивність утворення продуктів перексидного окиснення ліпідів. Так, вміст дієнових кон'югатів у тимусі морських свинок у ранні, 1 добу зростає на 31,58 % ($p < 0,05$), 2 добу – 42,11 % ($p < 0,05$) і пізні періоди формування експериментального алергічного альвеоліту на 34 добу, що дорівнює 2 добі, а рівень малонового діальдегіду на 1 добу – 57,61 % ($p < 0,05$), 2 добу поступово зростає до 68,48 % ($p < 0,05$), 34 добу поступово знижується і рівний 1 добі, порівняно з інтактними тваринами, що вказує на активізацію пероксидації ліпідів. Активність каталази підвищувалась у тимусі в ранній (1 і 2 доби) період ЕАА відповідно на 6,12 % ($p < 0,05$) і 10,11 % ($p < 0,05$), у пізній (34 добу) – на 42,32 % ($p < 0,05$), а також активність СОД зростала на 1 та 2 добу відповідно

до 6,43 % ($p < 0,05$) та 66,28 %, ($p < 0,05$), а на 34 – знижувалась відповідно до 40,66 % ($p < 0,05$) порівняно з величинами інтактних морських свинок.

Результати наших досліджень встановили, що активність ферментів АОС змінювалась однонаправлено залежно від періодів формування експериментального АА. У морських свинок з експериментальним АА спостерігається підвищення продуктів ПОЛ як початкового, так і завершального його етапів. Водночас, активність окремих ферментів АОС зазнала протилежних змін. Показники СОД і КТ були знижені на 1 добу відповідно на 6,43 % ($p < 0,05$) і 6,12 % ($p < 0,05$) проти показників контрольної групи тварин, що вказує на пригнічення ферментативної ланки антиоксидантного захисту за умов формування АА.

ВИСНОВКИ Отримані результати дають можливість стверджувати, що поряд із стимуляцією прооксидантної системи відбувається компенсаторна реакція з боку антиоксидантної ферментативної. Це проявляється у підвищенні активності СОД і каталази та збільшенням вмісту продуктів ПОЛ – ДК і МДА в тимусі тварин при ЕАА.

Таким чином, проведені дослідження показують посилення активності ферментів АОС і продуктів ПОЛ у тимусі морських свинок при ЕАА, що свідчить про порушення функціонального стану про- та антиоксидантної систем, та доводять їх важливу роль у патогенезі ЕАА. Такі отримані результати свідчать про значні зміни у стані про- та антиоксидантної систем у тимусі тварин з екзогенним алергічним альвеолітом та є важливими для кращого розуміння патогенезу ЕАА. Дані дослідження дають можливість для пошуку більш ефективних і результативних способів корекції виявлених змін при ЕАА.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Регада М. С., Грицко Р. Ю., Любінець Л. А. Екзогенний алергічний альвеоліт / М. С. Регада, Р. Ю. Грицко, Л. А. Любінець. – Львів : Сполом, 2007. – 200 с.
2. Екзогенний алергічний альвеоліт : монографія. – 2-ге вид., доповн. і переробл. / [М. С. Регада, Р. Ю. Грицко, І. Г. Гайдучок [та ін.]. – 2007. – 200 с.
3. Положення про Комітет з питань етики (біоетики) : нормативний документ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України : наказ від 19.11.2012 № 1287 // Нормативно-правова база Міністерства освіти і науки України (офіційний веб-сайт) [Електронний ресурс] / Режим доступу до документу: <http://www.mon.gov.ua/ua/activity/63/64/normativno-pravova-baza/>.
4. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах : метод. реком. / О. Г. Резніков, А. І. Соловійов, Н. В. Добреля, О. В. Стефанов // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – № 7. – С. 47–61.

5. Орехов О. О. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите / О. О. Орехов, Ю. А. Кирилов // Архив патологии. – 1985. – № 10. – С. 54–61.
6. Holmes R. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holmes, C. Masters // FEBS Lett. – 1970. – Vol. 11, No. 1. – P. 45–48.
7. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of super oxide dismutase / R. Fried // Biochemie. – 1975. – Vol. 57, No. 65. – P. 657–660.
8. Гаврилов В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. – К. : Здоров'я, 1989. – С. 170–171.
9. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейникова // Лабораторное дело. – 1989. – № 7. – С. 8–10.

Отримано 05.09.17

CHANGES IN THYMUS OF ANIMALS OF PROOXIDATIVE AND ANTIOXIDANT SYSTEMS PARAMETERS UNDER THE CONDITIONS OF FORMATION OF EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS

Summary. In this paper it is established that under the conditions of the development of experimental allergic alveolitis at the 34th day of the concentration of malonic aldehyde increases due to the strengthening of lipid peroxidation processes. These changes indicate that in the pathogenesis of the development of experimental allergic alveolitis in guinea pigs an important role is played by the processes of lipid peroxidation and enzyme and non-enzymatic levels of the antioxidant system, as well as the significant depletion of the enzyme chain of the antioxidant glutathione system on the 34th day.

The aim of the study – to learn the state of pro- and antioxidant system in the thymus of animals at different periods of development of experimental allergic alveolitis (EAA).

Materials and Methods. Experiments were conducted on 36 guinea pigs, body weight 0.18-0.20 kg, distributed into four groups (nine animals in each). Intact guinea pigs were in the first group (control). Animals with experimental allergic alveolitis (EAA) – the second, third, and fourth groups, respectively, for 1, 2, and 34 days of the experiment. Determination of tests that reflect the processes of prooxidant (DC, MDA) and antioxidant systems (SOD, catalase) in the thymus were performed in intact guinea pigs and in animals with experimental allergic alveolitis. EAA – by the method of O. O. Orekhov, Yu. A. Kyrylov, 1985. The animals were decapitated under the ethereal anesthesia on the 1st, 2nd, 34th day of the experiment. They conducted a fence of thymus, from which homogenate was prepared. In the homogenate, the activity of catalase (CT) – R. Holmes, C. Masters; superoxide dismutase (SOD) – R. Fried, as well as the content of diene conjugates (DK) by the method of V. B. Havrylov, M. I. Mishkorudna and determined the level of malonic dialdehyde (MDA) by E. N. Korobeinikov method. Statistical processing of digital data was carried out using the Styuden method.

Results and Discussion. The results of research have found that the activity of the enzymes AOS varied unidirectionally, depending on the periods of formation of the experimental AA. Thus, in guinea pigs with experimental AA there is an increase in LPP products both in its initial and final stages. The findings of the studies indicate significant changes in the state of pro- and antioxidant systems in the thymus of animals with exogenous allergic alveolitis and are important for a better understanding of the pathogenesis of EAA. These studies provide an opportunity to find more effective and useful ways to correct the detected changes in EAA.

Key words: experimental allergic alveolitis; thymus; diene conjugates; malonic dialdehyde; superoxide dismutase; catalase.

ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРООКСИДАНТНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ В ТИМУСЕ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЛЕРГИЧЕСКОГО АЛЬВЕОЛИТА

Резюме. В данной работе показано, что в условиях развития экспериментального аллергического альвеолита на 34 сутки возрастает концентрация малонового альдегида за счет усиления процессов пероксидного окисления липидов. Данные изменения указывают, что в патогенезе развития экспериментального аллергического альвеолита морских свинок важную роль играют процессы пероксидного окисления липидов (ПОЛ) и ферментативного и неферментативного звена антиоксидантной системы (АОС), а также значительное истощение ферментативного звена антиоксидантной глутатионовой системы на 34 сутки.

Цель исследования – изучить состояния про- и антиоксидантной системы в тимусе животных в разные периоды развития экспериментального аллергического альвеолита (ЭАА).

Материалы и методы. Опыты проведены на 36 морских свинок массой тела 0,18–0,20 кг, которых разделили на четыре группы (девять животных в каждой). Интактные морские свинки составили первую группу (контроль). Животные с экспериментальным аллергическим альвеолитом – вторая, третья, четвертая группы, соответственно на 1; 2 и 34 сутки эксперимента. Определение тестов, которые отражают процессы прооксидантной (ДК, МДА) и антиоксидантной систем (СОД, каталаза) в тимусе, осуществляли в интактных морских свинок и в животных с экспериментальным аллергическим альвеолитом. ЭАА – методом О. О. Орехова, Ю. А. Кирилова (1985). Животных декапитировали под эфирным наркозом на 1; 2; 34 сутки проведения эксперимента. Проводили забор тимуса, из которого готовили гомогенат. В гомогенате исследовали активность каталазы (КТ) – R. Holmes, C. Masters; супероксиддисмутазы (СОД) – R. Fried, а также содержание диеновых конъюгатов (ДК) – методом В. Б. Гаврилова, М. И. Мишкорудной и определяли уровень малонового диальдегида (МДА) по методу Э. Н. Коробейниковой. Статистическая обработка цифровых данных проводилась с использованием метода Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследований показали, что активность ферментов АОС изменилась однонаправленно в зависимости от периодов формирования ЭАА. Потому в морских свинок с экспериментальным АА было повышение продуктов ПОЛ как при начальном, так и на завершающем этапах.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о значительных изменениях в состоянии про- и антиоксидантной систем в тимусе животных с экзогенным аллергическим альвеолитом и важны для лучшего понимания патогенеза ЭАА. Данные исследования дают возможность для поиска более эффективных и результативных способов коррекции выявленных изменений при ЭАА.

Ключевые слова: экспериментальный аллергический альвеолит; тимус; диеновые конъюгаты; малоновый диальдегид; супероксиддисмутаз; каталаза.